DOI:10.16016/j.1000-5404.201601041

microRNA-206 单核苷酸多态性与乙型肝炎病毒相关原发性肝癌关系的初步研究

李天驹,秦 波,李 朋 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院感染科)

[摘要] **目的** 探讨 microRNA-206(miRNA-206)单核苷酸多态性与乙型肝炎病毒(HBV)相关原发性肝癌遗传易感性及术后复发的关系。**方法** 共纳入三组受试对象,分别为 128 例 HBV 相关肝癌患者(HCC 组)、121 例慢乙肝患者(CHB 组)及 129 例健康受试者(CON 组)。采用生物信息学方法预测并筛选位于 miRNA-206 启动子调控区域的三个标签 SNP,基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法检测 miRNA-206 rs16882131、rs6920648、rs945210 三个 SNP 位点的基因型,分析其与 HBV 相关肝癌易感性及早期复发的关系。**结果** miRNA-206 rs16882131 基因型及等位基因分布在 HCC、CHB、CON 三组间差异有统计学意义,其突变基因型 CC 和等位基因 C 降低 HBV 相关肝癌发生风险(*OR* = 0.354,95% *CI* 0.163 ~ 0.771;*OR* = 0.182,95% *CI* 0.124 ~ 0.267),但与肝癌术后早期复发无显著相关性。**结论** miRNA-206 rs16882131 多态性可能与 HBV 相关肝癌遗传易感性相关,但与肝癌术后早期复发无明显关系。

[关键词] microRNA; 原发性肝癌;乙型肝炎病毒;单核苷酸多态性;复发
[中图法分类号] R373.21;R730.23;R735.7 [文献标志码] A

Correlation between microRNA-206 single nucleotide polymorphisms and HBV-related hepatocellular carcinoma

Li Tianju, Qin Bo, Li Peng (Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the correlation of microRNA-206 (miRNA-206) single nucleotide polymorphisms (SNPs) with genetic predispostion and early recurrence after resection of HBV-related hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A total of 378 subjects, including 128 patients with HBV-related HCC (HCC group), 121 patients with chronic hepatitis B (CHB group) and 129 normal controls (control group), were enrolled in this study. Bioinformatics methods were used to predict and screen 3 SNPs (rs16882131, rs69020648, rs945210) in miRNA-206 gene promoter regulatory region, and matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry analysis was adopted to detect the genotypes of the 3 SNPs in miRNA-206 gene. The correlation between genetic variants and the risk of HCC was analyzed, and the impact of mutations on HCC early recurrence was assessed. **Results** The distributions of genotypes and alleles of miRNA-206 rs16882131 were significantly different among the 3 groups. The CC genotype and C allele were associated with reduced risk of HCC (*OR* = 0.354, 95% *CI*: 0.163 ~ 0.771; *OR* = 0.182, 95% *CI*: 0.124 ~ 0.267). **Conclusion** MiRNA-206 rs16882131 polymorphism may be associated with the genetic predispostion of HBV-related HCC, but not associated with the early reccurence of HCC.

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81271838)
[通信作者] 秦 波, E-mail:cqqinbo@126.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160516.1350.002.html(2016-05-16)

[**Key words**] microRNA; hepatocelluar carcinoma; HBV; single nucleotide polymorphism; recurrence

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China(81271838). Corresponding author: Qin Bo, E-mail: cqqinbo@126.com

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma,HCC)是世界范围内最具挑战性的健康问题之一,每年致近70万人死亡[1]。在我国,慢性乙肝病毒感染是引起原发性肝癌发病最常见的原因,而乙型肝炎病毒(HBV)相关肝癌又呈现缺乏有效治疗手段及预后较差等特点[2]。对于肝脏功能部分尚存且解剖学上可切除的肝癌患者,肝叶切除术一直是首选治疗方式[3]。然而,由于高复发和(或)转移率,切除术后的预后仍不理想。肝癌切除术后1年内的肝内、局部或全身复发被称作早期复发,其为影响肝癌预后的重要因素之一[4]。目前主要根据巴塞罗那肝癌分期标准、TNM分期或其他临床病理特征评估肝癌切除术患者的预后及预测复发[5-6],但现今肝癌的预后仍难以预测评估。因此,与肝癌发生发展和预后相关的危险因素值得我们更多更进一步地研究。

miRNA-206基因定位于6p12.2,最早发现在骨骼肌中特异表达[7]。对miRNA-206与ERα、Met等靶基因之间联系的深入研究,发现其在乳腺癌、横纹肌肉瘤等发挥独特的抑癌基因作用,为乳腺癌及横纹肌肉瘤的治疗提供了新的靶点[8-9]。而在肝癌组织和肝癌细胞系中,miRNA-206呈低表达水平且与侵袭性的临床病理特征相关,通过上调miRNA-206表达可抑制肿瘤细胞增殖及侵袭能力[10]。miRNA-206可直接或间接影响Notch3、Bax、Bcl-2、Hesl、p57、MMP-9靶基因,进而诱导HepG2细胞周期停滞并抑制细胞迁移[11]。这些研究表明miRNA-206可能是肝癌的抑癌基因和潜在的治疗靶点。单核苷酸多态性(SNP)是遗传变异中最常见的类型,存在着人种和地区的差异。越来越多的证据表明,miRNA基因的SNP可以改变miRNA的表达和影响miRNA的成熟,并与癌症的发生和发展相关[12-13]。本研究通过生物信息学方法选取miRNA-206基因启动子调控区域内的标签SNP(tag SNP),选用相应的分型方法,分析评价miRNA-206 SNP与HBV相关肝癌的遗传易感性和术后早期复发的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

共收集378例血液样本,分为三组:128例HBV相关肝癌患者(HCC组,2012年4月至2013年5月本院手术患者)、121例慢性乙型肝炎患者(CHB组)及129例健康正常对照(CON组)。本研究经医院伦理审查委员会批准,患者知情同意。

1.2 纳入标准

①肿瘤切除完整,切缘镜下无肿瘤,术前及术中未见远处转移,术后病检结果为肝细胞性肝癌。②肝癌患者均为HBsAg阳性超过6个月和(或)HBV-DNA > 1×10^3 IU/L。③慢性乙肝患者符合《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》诊断标准[14],HBsAg阳性超过6个月,且HBV-DNA > 1×10^3 IU/L。④对照组为无心、脑、肝、肾及内分泌代谢疾病的健康体检人群。

1.3 排除标准

①其他肿瘤转移至肝脏。②合并感染甲肝、丙肝、戊肝等其他肝炎病毒,存在酒精性脂肪肝、代谢性肝病或自身免疫性肝病等其他肝脏病变情况。③合并其他严重内科疾病或精神疾病。

1.4 病例随访

肝癌患者术后常规随访1年,定期复查肝功能、AFP、肝脏B超及胸片等,针对可疑复发者通过增强CT、MRI或肝动脉造影证实。

1.5 生物信息学法选择候选SNP位点

采用NCBI SNP数据库及miRNA SNP在线软件检索miRNA-206序列上游启动子区域SNP信息。miRNA-206基因5'端上游1 kb序列包括两个顺式调控元件及TATA盒[15],故本研究利用UCSC在线数据库提取miRNA-206上游1 kb启动子活性区域序列[16]。根据CNCV-Tag SNP假说的思路挑选SNP位点[17],使用人类基因组单体型图计划数据库(hapmap)在线软件配合hapview 4.0软件筛选miRNA-206在中国人群中存在分布频率的tag SNP。同时限定杂合度高的tag SNP,即其次要等位基因(MAF)大于0.05。共选定3个tag SNP,包括rs16882131、rs6920648及rs945210。采用在线转录因子数据库(http://transfac.gbf.de/TRANSFAC/)对三个位点的转录因子结合位点预测。

1.6 SNP分型

利用血液基因组DNA提取试剂盒(上海生工生

表 1 microRNA-206 SNP 位点扩增引物及延伸引物序列

SNP 位点	正向引物(5′-3′)	反向引物(5′-3′)	延伸引物(5′-3′)
rs16882131	ACGTTGGATGAGGACTGGATAGACTGTAGC	ACGTTGGATGCCTTCCTACTGTTTGTTCAC	AGGGAAACGTGGTGCTG
rs6920648	ACGTTGGATGCAGCATTCCAAGCACCATTG	ACGTTGGATGTCAGGCCTCACAGATTGTGG	AAGCACCATTGTTCACTG
rs945210	ACGTTGGATGAGGGCCGGTGTGTTTCTAAG	ACGTTGGATGGAAGAGAGAATCCAACAGAG	GTGTGTTTCTAAGCATGAG

表 2 三组人群一般资料比较

组别	n	年龄(岁,$\bar{x}\pm s$)	男性[n(%)]	女性[n(%)]	ALT(U/L,$\bar{x}\pm s$)	AST(U/L,$\bar{x}\pm s$)
CON 组	129	49.88±9.96	68(52.71)	61(47.29)	10.24±3.94	11.95±5.15
CHB 组	121	50.88±11.5	77(63.64)	44(36.36)	48.78±84.45	37.52±48.56
HCC 组	128	51.67±12.40	114(89.06)[a]	14(10.94)	76.46±124.86[a]	94.88±106.01[a]

ALT:丙氨酸氨基转移酶,AST:天冬氨酸氨基转移酶;a:$P<0.05$,与 CHB 组及 CON 组比较

物公司)从样本 1 mL 静脉血中提取血细胞基因组 DNA,充分溶解 DNA 后置于 -80 ℃保存。在 NCBI SNP 数据库下载已选取的 SNP 序列,通过 Assay Designer 3.1 软件(Sequenom 公司)设计扩增及延伸引物,引物序列见表 1。采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术检测 SNP 分型,MassARRAY 基因分析质谱仪为美国 Sequenom 公司提供。分别取 1 μL DNA 样本加入 PCR 扩增反应,扩增产物经由虾碱性磷酸酶酶切后,加入 iPLEX 反应试剂进行延伸反应,延伸产物经树脂纯化后,转移至 MassARRAY SpectroCHIP 芯片上,放入质谱仪中检测。最后通过 TYPER 软件分析实验结果,获得分型数据。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件,计量资料数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,拟合优度检验法验证对照组基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。运用 χ^2 检验和独立样本 t 检验比较三组人群之间的人口学特征及基因型分布。非条件 Logistic 回归分析计算 *OR* 值及 95% *CI* 以评估 miRNA-206 的相对危险度。建立逐步回归模型对复发危险因素进行多因素分析。

2 结果

2.1 临床资料比较

CON 组、CHB 组及 HCC 组的一般临床资料比较见表 2。三组年龄差异没有统计学意义,HCC 组男性居多($P<0.05$),HCC 组肝功能转氨酶水平(包括丙氨酸氨基转移酶和天冬氨酸氨基转移酶)高于其余两组($P<0.05$)。

2.2 SNP 位点的基因分型

利用 MADLI-TOF 法对 miRNA-206 rs16882131、rs6920648、rs945210 三个 SNP 位点成功进行基因分型,三个位点均在总体中符合 Hardy-Weinberg 平衡。三个 SNP 位点表型在 CON、CHB、HCC 三组间具体分布见表 3。rs6920648 和 rs945210 两个位点在基因型和等位基因频率分布上差异均无统计学意义,但 rs16882131 C 等位基因频率分布在三组间差异有统计学意义($\chi^2=89.875\ 5$,$P<0.01$),CHB 组(67.36%)和 HCC 组(62.50%)C 等位基因频率分别较 CON 组(76.74%)显著降低($P<0.05$)。rs16882131 基因型频率分布在三组人群间差异有统计学意义($\chi^2=11.324$,$P=0.023$),两两比较,仅 HCC 组与 CON 组间差异有统计学意义,其 CC 基因型频率较 CON 组显著降低(42.97% *vs* 62.79%,$P<0.01$)。rs16882131 基因型在三组人群性别间的分布差异无统计学意义(表 3)。根据 HBV DNA 定量检测结果将 HCC 组划分为 HBV DNA 阴性组及 HBV DNA 阳性组,两组肝癌患者间各基因型频率分布比较差异无统计学意义(表 4)。进一步分析发现,rs16882131 CC 突变基因型和 C 等位基因降低肝癌发生风险(*OR*=0.354,95% *CI* 0.163~0.771;*OR*=0.182,95% *CI* 0.124~0.267),而其 C 等位基因可降低慢性乙型肝炎发生风险(*OR*=0.625,95% *CI* 0.421~0.928),见表 4。应用 TRANSFAC 在线转录因子数据库对 miRNA-206 基因启动子调控区域转录因子的结合位点预测,结果显示 rs16882131 位点(距转录起始点 214 bp)T-C 突变可能降低转录因子 NF-κB 的结合能力。

2.3 miRNA-206 多态性与肝癌术后 1 年内复发的关系

miRNA-206 rs16882131 各基因型与肝癌术后 1 年内复发无明显相关,见表 4。

表 3 miRNA-206 rs16882131、rs6920648、rs945210 位点基因型及等位基因在三组人群中的分布[n(%)]

基因型		CON 组 (n=129)	CHB 组 (n=121)	HCC 组 (n=128)
rs16882131				
TT	男	11(16.17)	13(16.88)	21(18.42)
	女	1(1.64)	4(9.10)	2(14.29)
		12(9.30)	17(14.05)	23(17.97)
CT	男	16(23.53)	25(32.47)	46(40.35)
	女	20(32.79)	20(45.45)	4(28.57)
		36(27.91)	45(37.19)	50(39.06)
CC	男	41(60.30)	39(50.65)	47(41.23)
	女	40(65.57)	20(45.45)	8(57.14)
		81(62.79)	59(48.76)	55(42.97)[b]
CT+CC		117(90.70)	104(85.95)	105(82.03)
C		198(76.74)	163(67.36)[a]	160(62.50)[a]
rs6920648				
AA		113(87.60)	103(85.13)	108(84.38)
AG		15(11.62)	16(13.22)	19(14.84)
GG		1(0.78)	2(1.65)	1(0.78)
AG+GG		16(12.40)	18(14.87)	20(15.63)
G		17(6.59)	20(8.26)	21(8.20)
rs945210				
TT		113(87.60)	96(80.67)	104(81.25)
TG		15(11.62)	21(17.65)	20(15.62)
GG		1(0.78)	2(1.68)	4(3.13)
TG+GG		16(12.40)	23(19.44)	28(21.88)
G		17(6.59)	25(10.50)	24(9.38)

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与 CON 组相比

表 4 miRNA-206 rs16882131 各基因型与 HBV-DNA 复制及肝癌术后 1 年复发的关系[n(%)]

分组	TT(n=23)	CT(n=50)	CC(n=55)
HBV-DNA 复制			
HBV-DNA 阴性组	7(30.4)	21(42.0)	22(40.0)
HBV-DNA 阳性组	16(69.6)	29(58.0)	33(60.0)
术后是否复发			
未复发	10(43.5)	33(66.0)	39(70.9)
复发	13(56.5)	17(34.0)	16(29.1)

3 讨论

microRNA 的单核苷酸多态性在许多疾病中的作用被日趋重视。目前较多的研究焦点集中于 miRNA 及其下游靶点的基因多态性,而致力于 miRNA 启动子调控区域的 SNP 的研究相对较少。前体 miRNA(pre-miRNA)及其调控区域的 SNP 可影响成熟 miRNA 的生物合成,进而影响疾病的易感性及临床转归。Xu 等[13]报道 miRNA 启动子调控区域的 SNP 与癌症之间的关联,通过病例对照研究发现 pri-miRNA-34b/c 启动子调控区域内 rs4938723 突变基因显著增加了肝癌发生风险。Liu 等[18]研究发现,miRNA-106b-25 基因簇的启动子区域 rs999885 与慢性乙型肝炎及 HBV 相关肝癌相关联,通过改变基因簇的表达,其 G 等位基因降低乙肝病毒慢性感染的风险,但增加乙肝病毒持续携带者的肝癌患病风险。由此可见,miRNA 启动子调控区域内的 SNP 在疾病进程中发挥着重要作用。

本研究通过 Hapmap 数据库筛选在 miRNA-206 启动子调控区域筛选得到三个 tag SNP(rs16882131、rs6920648 和 rs945210)。进一步分析发现 miRNA-206 rs16882131 与慢性乙型肝炎及 HBV 相关 HCC 遗传易感性有关,其 C 等位基因可能降低慢性乙型肝炎及 HBV 相关肝癌患病风险,而其 CC 突变基因型只与 HBV 相关肝癌患病风险降低有关。推测 rs16882131 突变基因可能影响 HBV 复制进而降低 HBV 相关肝癌患病风险。因此,我们分析了 rs16882131 各基因型在肝癌患者 HBV DNA 阳性组和 HBV DNA 阴性组之间的分布情况,但并未发现其与肝癌患者 HBV DNA 复制情况存在相关性,这可能表明 miRNA-206 对 HBV 相关肝癌的影响并不能简单地用关联 HBV 病毒复制情况解释。本研究还显示三组人群有显著性别差异,这符合亚洲 HBV 相关肝癌男性患者的发病率明显高于女性[19]。性别差异一般不会影响常染色体上的多态位点分析结果,我们根据性别进行了分层分析,发现 miRNA-206 基因多态性单独在男性层和女性层均无分布差异(男:$\chi^2=6.984$, $P=0.137$;女:$\chi^2=7.541$, $P=0.110$),表明性别可能不是基因型分布的影响因素。

miRNA 启动子调控区域的 SNP 可能与转录因子的结合位点重叠,进而影响 miRNA 编码区域的转录翻译[20]。我们利用在线转录因子数据库(http://transfac.gbf.de/TRANSFAC/)对 miRNA-206 基因启动子调控区域转录因子的结合位点预测,结果显示 rs16882131 位点的碱基改变引起了该位点结合的转录因子发生变化,T-C 突变位于转录因子 NF-κB 识别位点,可能降低了 NF-κB 结合能力。考虑该启动子区域位点的碱基突变可能引起该区域对转录因子的亲和力或 DNA 次级结构的改变,从而导致转录因子的丢失。CC 基因型的部分转录因子丢失致使 miRNA-206 转录活性改变,进而影响其表达水平。NF-κB 是具有多向调控作用的细胞核内转录因子,激活的 NF-κB 在炎症

性相关的肝癌发生发展中呈高表达,并在肝细胞从慢性炎症到癌变过程中扮演着重要角色,其影响包括肝炎病毒相关基因、肝细胞免疫炎症相关基因和癌基因的转录表达[21]。肝炎病毒能够激活 NF-κB 并增强其与 DNA 结合能力,而胞内异常活化的 NF-κB 可抑制细胞凋亡,促进肝细胞恶性转化,从而参与肝癌的调控[22]。由此可见,NF-κB 是肝癌相关的重要因子。综合本研究结果推测,miRNA-206 启动子调控区域的 rs16882131 CC 基因型可能是由于失去部分转录因子 NF-κB,从而导致成熟体 miRNA-206 的表达水平改变,其具体途径有待更深入的实验验证。

miRNA SNP 可能通过影响成熟 miRNA 的生物合成,进而改变其表达水平及表达种类[23-25],这些改变均可能在分子生物学层面导致个体遗传差异。但目前尚不完全清楚这种先天差异是否可以引起肿瘤生物学特性改变,从而影响肿瘤的转归。也有学者报道发现 SNP 与肝癌预后相关[26-27]。本研究尝试分析 rs16882131 位点各基因型与肝癌术后早期复发的关系,其中 CC 及 CT 基因型患者较 TT 基因型复发比例低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。因此,miRNA-206 C 等位基因及 CC 基因型是否为肝癌预后的保护因素,仍需更进一步前瞻性、大样本、随机对照研究加以论证。

综上所述,本研究发现 miRNA-206 rs16882131 多态性可能与 HBV 相关肝癌遗传易感性相关,但与肝癌术后早期复发无明显关系。miRNA-206 很可能参与调控肝癌的发生发展,而其启动子调控区域多态位点 rs16882131 C 等位基因及 CC 基因型显著降低 HBV 相关肝癌的患病风险,提示该位点可能为潜在功能位点。检测 miRNA-206 多态位点可有助于筛选肝癌高危人群作为防治重点对象,同时在肝癌基因水平治疗及靶向治疗药物的开发等方面具有重要意义,但目前并不清楚 miRNA-206 SNP 如何影响肝癌的发生发展,又在慢性乙型肝炎到肝癌进程中发挥着什么作用,其具体机制有待深入研究。

参考文献:

[1] Jemal A, Bray F, Center M M, *et al*. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90. DOI:10.3322/caac.20107

[2] El-Serag H B. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2012, 142(6): 1264-1273. e1. DOI:10.1053/j.gastro.2011.12.061

[3] Rahbari N N, Mehrabi A, Mollberg N M, *et al*. Hepatocellular carcinoma: current management and perspectives for the future[J]. Ann Surg, 2011, 253(3): 453-469. DOI:10.1097/SLA.0b013e31820d944f

[4] Poon R T, Fan S T, Lo C M, *et al*. Intrahepatic recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma: long-term results of treatment and prognostic factors[J]. Ann Surg, 1999, 229(2):216-222.

[5] Llovet J M, Fuster J, Bruix J, *et al*. The Barcelona approach: diagnosis, staging, and treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Liver Transpl, 2004, 10(2 Suppl 1): S115-S120. DOI:10.1002/lt.20034

[6] Marrero J A, Fontana R J, Barrat A, *et al*. Prognosis of hepatocellular carcinoma: comparison of 7 staging systems in an American cohort[J]. Hepatology, 2005, 41(4): 707-716. DOI:10.1002/hep.20636

[7] Sempere L F, Freemantle S, Pitha-Rowe I, *et al*. Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation[J]. Genome Biol, 2004, 5(3): R13. DOI: 10.1186/gb-2004-5-3-r13

[8] Adams B D, Furneaux H, White B A. The micro-ribonucleic acid (miRNA) miR-206 targets the human estrogen receptor-alpha (ERalpha) and represses ERalpha messenger RNA and protein expression in breast cancer cell lines[J]. Mol Endocrinol, 2007, 21(5): 1132-1147. DOI: 10.1210/me.2007-0022

[9] Yan D, Dong-Xda E, Chen X, *et al*. MicroRNA-1/206 targets c-Met and inhibits rhabdomyosarcoma development[J]. J Biol Chem, 2009, 284(43): 29596-29604. DOI: 10.1074/jbc.M109.020511

[10] Yunqiao L, Vanke H, Jun X, *et al*. MicroRNA-206, down-regulated in hepatocellular carcinoma, suppresses cell proliferation and promotes apoptosis[J]. Hepatogastroenterology, 2014, 61(133):1302-1307.

[11] Liu W, Xu C, Wan H, *et al*. MicroRNA-206 overexpression promotes apoptosis, induces cell cycle arrest and inhibits the migration of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells [J]. Int J Mol Med, 2014, 34(2): 420-428. DOI:10.3892/ijmm.2014.1800

[12] Ryan B M, Robles A I, Harris C C. Genetic variation in microRNA networks: the implications for cancer research[J]. Nat Rev Cancer, 2010, 10(6): 389-402. DOI: 10.1038/nrc2867

[13] Xu Y, Liu L, Liu J, *et al*. A potentially functional polymorphism in the promoter region of miR-34b/c is associated with an increased risk for primary hepatocellular carcinoma[J]. Int J Cancer, 2011, 128(2): 412-417. DOI:10.1002/

ijc.25342

[14] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2011, 27(1): 113 – 128.

[15] McCarthy J J. MicroRNA-206: the skeletal muscle-specific myomiR[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1779(11): 682 – 691. DOI:10.1016/j.bbagrm.2008.03.001

[16] Karolchik D, Barber G P, Casper J, *et al*. The UCSC Genome Browser database: 2014 update[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(Database issue): D764-D770. DOI:10.1093/nar/gkt1168

[17] Collins F S, Guyer M S, Chakravarti A. Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation[J]. Science, 1997, 278(5343): 1580 – 1581.

[18] Liu Y, Zhang Y, Wen J, *et al*. A genetic variant in the promoter region of miR-106b-25 cluster and risk of HBV infection and hepatocellular carcinoma[J]. PLoS One, 2012, 7(2):e32230. DOI:10.1371/journal.pone.0032230

[19] Yuen M F, Hou J L, Chutaputti A, *et al*. Hepatocellular carcinoma in the Asia pacific region[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2009, 24(3): 346 – 353. DOI:10.1111/j.1440-1746.2009.05784.x

[20] Schmeier S, Schaefer U, MacPherson C R, *et al*. dPORE-miRNA: polymorphic regulation of microRNA genes[J]. PLoS One, 2011, 6(2):e16657. DOI:10.1371/journal.pone.0016657

[21] Pikarsky E, Porat R M, Stein I, *et al*. NF-kappaB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer[J]. Nature, 2004, 431(7007): 461 – 466. DOI: 10.1038/nature02924

[22] Chiao P J, Na R, Niu J, *et al*. Role of Rel/NF-kappaB transcription factors in apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells[J]. Cancer, 2002, 95(8): 1696 – 1705. DOI:10.1002/cncr.10829

[23] Yue C, Wang M, Ding B, *et al*. Polymorphism of the pre-miR-146a is associated with risk of cervical cancer in a Chinese population[J]. Gynecol Oncol, 2011, 122(1): 33 – 37. DOI:10.1016/j.ygyno.2011.03.032

[24] Jazdzewski K, Liyanarachchi S, Swierniak M, *et al*. Polymorphic mature microRNAs from passenger strand of pre-miR-146a contribute to thyroid cancer[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(5): 1502 – 1505. DOI:10.1073/pnas.0812591106

[25] 邓曦, 吴敬波. 微 RNAs 与肝癌关系的研究进展[J]. 中华消化外科杂志, 2015, 14(5): 431 – 433. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2015.05.018

[26] Wu L, Xu X, Shen J, et al. MDR1 gene polymorphisms and risk of recurrence in patients with hepatocellular carcinoma after liver transplantation[J]. J Surg Oncol, 2007, 96(1):62 – 68. DOI:10.1002/jso.20774

[27] Liu S, An J, Lin J, *et al*. Single nucleotide polymorphisms of microRNA processing machinery genes and outcome of hepatocellular carcinoma[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e92791. DOI:10.1371/journal.pone.0092791

(**收稿**:2016-01-08;**修回**:2016-04-27)

(编辑 邓强庭)